

# ESTUDIO SOBRE LA ELABORACION DE ENSILADO MICROBIANO A PARTIR DE PESCADO PROVENIENTE DE ESPECIES SUBUTILIZADAS

*M. Ottati<sup>1</sup>, M. Gutiérrez<sup>1</sup> y R. Bello<sup>1</sup>*

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos  
Facultad de Ciencias  
Universidad Central de Venezuela  
Caracas, Venezuela

## RESUMEN

Se elaboró un ensilado producido por vía microbiana a partir de una mezcla de pescados de diferentes especies, los cuales no se utilizan para consumo humano, proveniente de la fauna de acompañamiento del camarón. Estos fueron mezclados con una fuente de carbohidratos (melaza) en combinación con un cultivo "Starter" de la especie *Lactobacillus plantarum* 8014. La mezcla se dejó fermentar a la temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ . Luego se efectuaron pruebas para determinar las proporciones mínimas de melaza e inóculo para la elaboración del ensilado, las que consistieron en una concentración de melaza (5, 10 y 15%) e inóculo (0.0; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0 y 10.0%).

Los resultados indicaron que 1% de inóculo y 15% de melaza eran suficientes para producir un ensilado estable. El proceso de producción y la estabilidad del ensilado se siguió mediante los siguientes índices: humedad, proteína, grasa, ceniza, pH, acidez total, recuento de aerobios mesófilos y hongos, nitrógeno no proteínico, líquido exudado y consistencia. Los hallazgos de estos ensayos indicaron que en los primeros seis días de almacenamiento se producen cambios que están íntimamente involucrados con la producción de ácido, reducción de pH y control microbiano, mientras que posteriormente el proceso está más relacionado con la hidrólisis proteínica. Además, se llevaron a cabo pruebas sensoriales de color y olor.

Los resultados de este estudio sugieren la factibilidad de aprovechamiento de un recurso que se descarta al mar, mediante la aplicación de un esquema tecnológico sencillo, por el cual se obtiene un producto apto para la alimentación animal.

---

Manuscrito modificado recibido: 23-6-89.

1 Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47097 Caracas, 1041-A, Venezuela.

## INTRODUCCION

La pesca de arrastre utilizada para la captura del camarón, es un método poco selectivo que retiene una gran variedad de especies, tanto de pescado como de moluscos, crustáceos y equinodermos, los cuales por su bajo valor comercial y poca aceptabilidad por el consumidor, hasta hace pocos años eran considerados como "broza" o basura y eran desechados nuevamente al mar. Sin embargo, en los últimos años esta práctica ha ido declinando, en vista de que muchas de estas especies tienen un alto valor nutritivo, aunado al hecho de que se han llevado a cabo diversos estudios que han demostrado la factibilidad del uso de este recurso en la elaboración de productos, tanto para consumo humano como animal.

Aquellas porciones de la fauna de acompañamiento del camarón que presentan daños físicos como consecuencia de la captura, o que no han alcanzado aún su total madurez —lo cual las hace poco rentables para la extracción de la pulpa— no pueden ser aprovechadas en la obtención de productos para consumo humano, por lo que suelen destinarse a la elaboración de productos para alimentación animal. En este sentido, el ensilado de pescado parece ser una buena alternativa para el aprovechamiento de este recurso subutilizado. El ensilado de pescado obtenido por vía química es un producto líquido elaborado a partir de porciones o de la totalidad del pescado, en el que la licuefacción es producto de la acción de las enzimas proteolíticas presentes en las vísceras de los mismos, y se ve acelerada por la incorporación de ácidos (1, 2).

Un proceso alternativo lo constituye el ensilado microbiano, donde el proceso de obtención del producto es similar al del ensilado químico. La diferencia es que en vez de agregar directamente los ácidos sobre el pescado molido, se incorpora una fuente de carbono y un cultivo microbiano capaz de producir ácido. Este tiene por finalidad permitir una fermentación láctica, siendo el ácido producido durante el proceso el responsable de la preservación del producto (3). Cualquiera de los métodos que se utilice en la preparación del ensilado, el producto resultante es un líquido pastoso de color marrón amarillento, estable durante el almacenamiento (4).

El proceso para la obtención del ensilado es práctico, sencillo y económico, no requiriendo de procedimientos y equipos sofisticados y costosos, como sucede en el caso de la elaboración de la harina de pescado. Más aún, el ensilado obtenido por vía microbiana es mucho más económico que la harina de pescado y el ensilado químico, como suplemento proteínico en las raciones alimenticias de animales, ya que no requiere de altos procesos térmicos ni de la incorporación de ácidos orgánicos e inorgánicos, que resultan ser sumamente costosos. De ahí que el objetivo del presente trabajo haya sido el desarrollar ensilados de pescado por vía microbiana a partir de la fauna de acompañamiento del camarón, y estudiar la estabilidad del mismo bajo determinadas condiciones de almacenamiento.

## MATERIAL Y METODOS

### A. Materiales

1. *Pescado* — El pescado utilizado como materia prima fue la porción perteneciente a la fauna de acompañamiento del camarón que no puede ser empleada para consumo humano por su bajo valor comercial y los daños físicos que presenta, por lo que generalmente es descartada al mar por las embarcaciones que efectúan la pesca de arrastre del camarón en Pto. Cabello (Edo. Carabobo). Las 12 especies predominantes fueron: *Gerres cinereus* (Mojarra), *Selene setapinnis* (Lamparosa), *Upeneus parvus* (Salmonete de charco), *Synodus foetens* (Guaripete), *Sphyræna quachancho* (Picúa), *Syacium gunteri* (Lenguado), *Diplectrum radiale* (Bolo), *Sardinella anchovia* (Sardina), *Lepophidium profundorum* (Perlita), *Gymnothorax nigromarginatus* (Morena), *Prionotus roseus* (Gallina de mar) y *Trichuyirus lepturus* (Tajalí).

2. *Melaza* — Este subproducto de la refinación del azúcar se obtuvo de una Central Azucarera y fue utilizado como sustrato para los microorganismos fermentadores, inoculados en el producto.

3. *Microorganismos* — Se utilizó un cultivo de bacterias ácido-lácticas homofermentadoras capaces de producir ácido láctico a partir de la degradación de un sustrato (5). La cepa de ácido láctico empleada fue *Lactobacillus plantarum* 8014, la cual fue inoculada en caldo Man Rogosa Sharpe durante 48 hr previo a la elaboración del ensilado, e incubada por 24 hr a 30°C. Esto se hizo con el objeto de utilizar un cultivo joven e incrementar la población en  $1 \times 10^6$  cel./ml.

4. *Acido sórbico* — Este ácido es un agente químico que se incorporó al producto en una concentración de 0.25% como aditivo antimicrobiano.

### B. Métodos

1. *Métodos físicos y químicos* — Se determinó el contenido de humedad, proteína cruda, grasa cruda, cenizas y carbohidratos, según recomendaciones de la AOAC (6). Asimismo se efectuaron las siguientes determinaciones: pH mediante el uso de un potenciómetro marca Corning, Modelo 5. Acidez total titulable, según el método N° 10.034 de la AOAC (6). Nitrógeno no-proteínico: mediante precipitación con ácido tricloroacético al 10% (7) seguido por digestión y destilación de acuerdo al método de Mikrokjeldahl N° 47.021 también de la AOAC (6). La consistencia se estableció utilizando el consistómetro de Bosjtwick.

El líquido exudado se determinó por centrifugación del material a 7,000 rpm por 10 min., midiendo el volumen sobrenadante, y por último, el perfil de ácidos grasos valiéndose de cromatografía de gas líquido.

2. *Métodos microbiológicos* — Estos se aplicaron para establecer la enumeración de aerobios mesófilos, lo que se hizo en Agar estándar, incubando por 48 hr a 30°C (8); enumeración de mohos y levaduras, en Agar extracto malta acidificado con ácido láctico, incubando por 5 días a 25°C (8); enumeración de coliformes totales, según técnica del

número más probable utilizando caldo Lauryl sulfato triptosa, e incubando a 32°C por 48 hr (8); enumeración de coliformes fecales, según la técnica del número más probable utilizando caldo de *Escherichia coli*, e incubando a 44.5°C por el término de 48 hr (8).

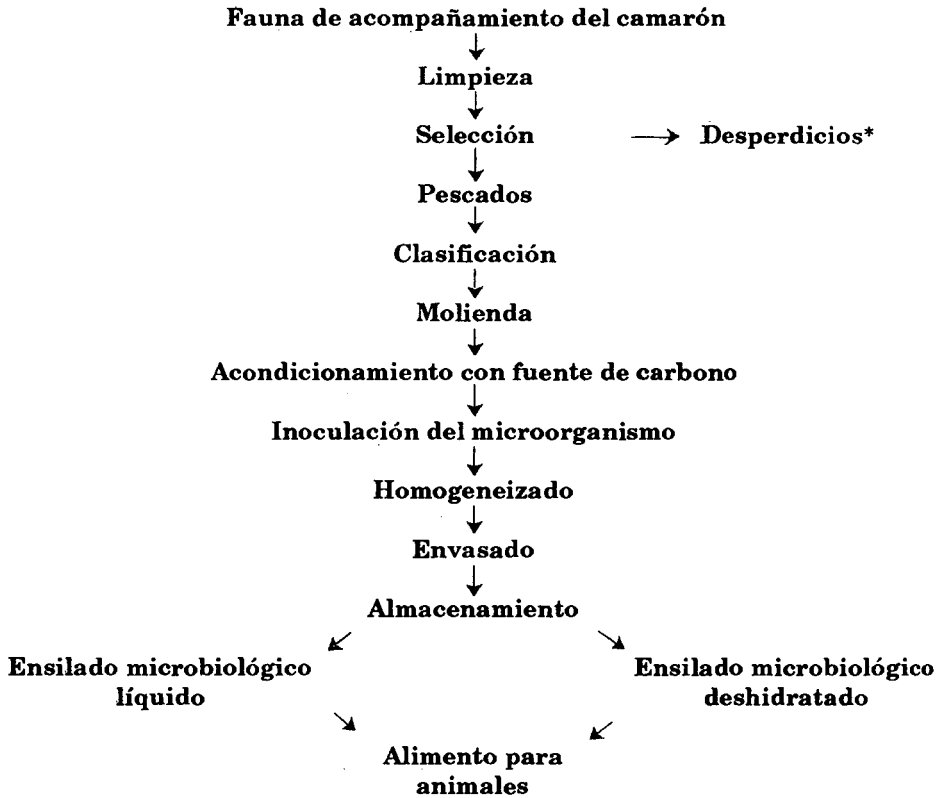
La enumeración de *Staphylococcus aureus*, se realizó en Agar Baird Parker, incubando por 48 hr a 37°C (8); la detección de *Salmonella* spp como sigue: se realizó un preenriquecimiento, luego un enriquecimiento, y por último un aislamiento en Agar Salmonella-Shigella y en Agar Verde Brillante (8); y la enumeración de *Bacillus cereus* se llevó a cabo en Agar Yema de Huevo Polimixina Rojo Fenol, incubando por 48 hr a 37°C (8).

3. *Métodos sensoriales* — Cada cinco días y durante todo el período de almacenamiento se hicieron simples observaciones visuales de color, aspecto y olor del producto, las cuales fueron utilizadas como índices del curso de la fermentación y del éxito del proceso de licuefacción.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Aquellas especies de pescado pertenecientes a la fauna de acompañamiento del camarón que no pueden ser utilizadas para consumo humano por acusar daños físicos, producto del proceso de captura, o por sus características morfológicas o reducido tamaño fueron en primera instancia seleccionadas, clasificadas y sometidas a limpieza. Luego, las especies de pescado seleccionadas se molieron enteras en un molino marca Boia H.D., Modelo 08122. El pescado molido se acondicionó con una fuente de carbono, se le incorporó un agente preservativo, y se inoculó con un cultivo de bacterias productoras de ácido. En seguida se homogeneizó en una mezcladora Hobart, Modelo HCM 300 por 6 min, y la mezcla se colocó en envases plásticos cerrados herméticamente, los cuales fueron almacenados en cuartos de incubación de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los envases fueron sometidos a agitación periódica con el objeto de acelerar el proceso, quedando elaborado el producto a partir de los 15 días de almacenamiento. La Figura 1 ilustra el esquema tecnológico seguido para la elaboración del ensilado microbiano de pescado a partir de la fauna de acompañamiento del camarón.

Se llevaron a cabo estudios preliminares en nuestro laboratorio, con miras a determinar las condiciones más apropiadas para obtener un ensilado estable. En tal sentido, se utilizaron diferentes fuentes de carbono (harinas de arroz, harinas de avena, harina de maíz, harina de yuca y melaza), microorganismos fermentadores productores de ácido (*Streptococcus lactis*, *Candida lipolytica* y *Lactobacillus plantarum*), temperaturas de almacenamiento (12°, 20°, 25° y 30°C), y agentes preservativos (sorbato y propionato), para establecer los parámetros más adecuados a aplicar en la elaboración del ensilado por vía microbiana. Con esta información preexistente como base, pudo establecerse que la melaza es un sustrato de fácil adquisición, y económico, que resulta ser efectivo como fuente de energía y mine-



\* Desperdicios: crustáceos, moluscos y equinodermos.

**FIGURA 1**

**Esquema tecnológico para la elaboración de ensilado de pescado por vía microbiana**

rales para el desarrollo de microorganismos fermentadores. Respecto al microorganismo utilizado se encontró que, *L. plantarum* presenta una mejor eficiencia fermentativa que los demás microorganismos cuando se inocula en el pescado mezclado con la melaza, debido a que produce grandes cantidades de ácido en un período de tiempo menor, lo que favorece un rápido descenso de los valores de pH. Se encontró, igualmente, que la temperatura de 28-30°C aproximadamente, favorece el proceso de hidrólisis proteínica acelerando la licuefacción del producto. La incorporación de ácido sórbico es fundamental en este tipo de productos, ya que se sabe que la contaminación del producto fermentado suele ser causada generalmente por levaduras que asimilan el ácido láctico (9).

Con base en lo anterior, se procedió a elaborar ensilado de pescado microbiano utilizando melaza como fuente de carbono, *L. plantarum* como microorganismo productor de ácido, y ácido sórbico como agente preservativo, siendo la temperatura de almacenamiento del producto de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ . Se llevó a cabo una serie de ensayos a fin de optimizar el proceso, es decir, establecer las concentraciones mínimas tanto de melaza como de inóculo requeridas para obtener un producto estable y económico. Los parámetros utilizados en todas estas experiencias para evaluar la calidad y estabilidad del producto, fueron el pH y estimaciones de olor, color y aspecto. Los tres primeros ensayos fueron realizados bajo estrictas condiciones de asepsia, mientras que el cuarto se llevó a cabo en condiciones de escasa esterilidad.

En la Figura 2 se muestran los resultados de pH obtenidos para tres ensilados de pescado elaborados con 5% de melaza y diferentes

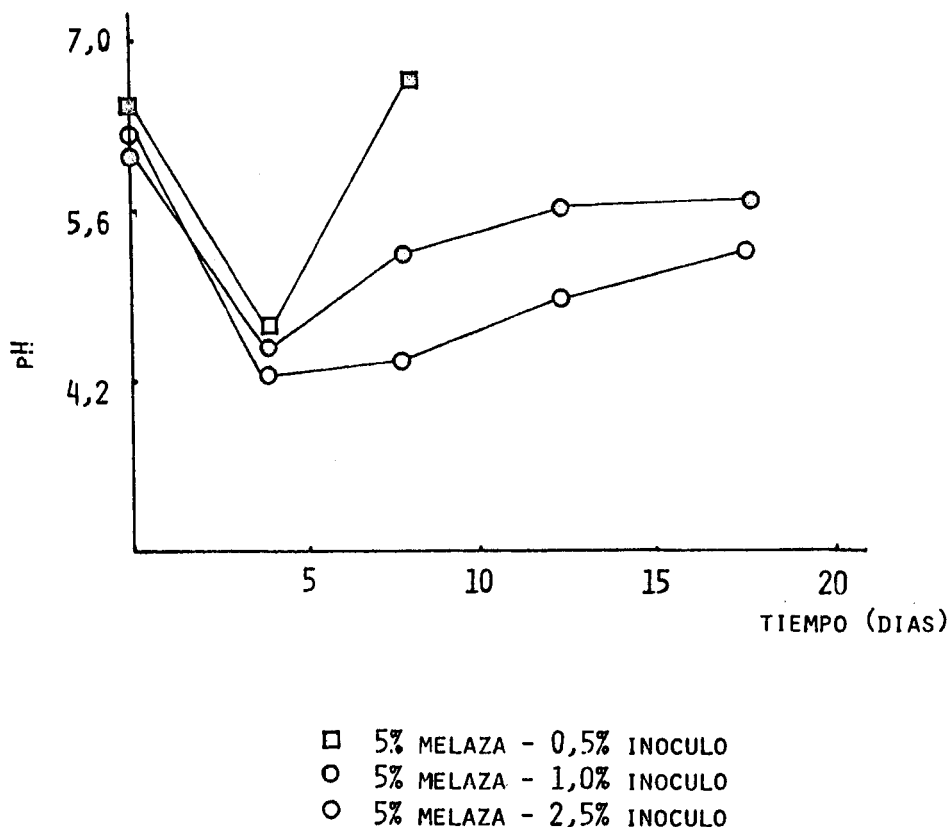


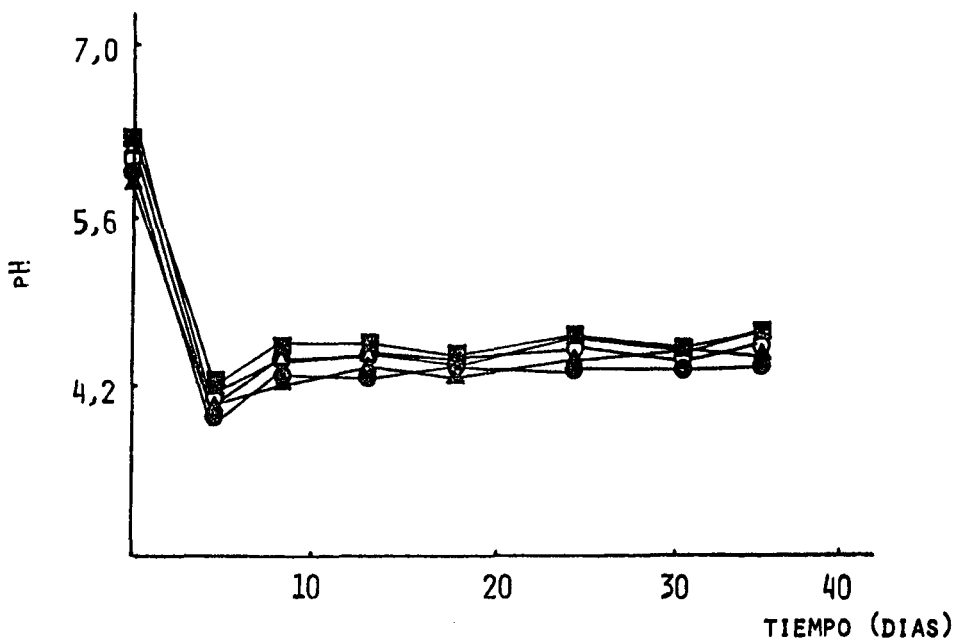
FIGURA 2

Cambios en los valores de pH de los ensilados de pescado elaborados con 5% de melaza y diferentes concentraciones de inóculo de *L. plantarum*, bajo condiciones de asepsia

concentraciones de inóculo de *L. plantarum* (0.5; 1.0 y 2.5%). Según se observa, a los cuatro días de almacenamiento ocurrió una disminución del pH; sin embargo, a los ocho días se aprecia que el ensilado con menor concentración de inóculo (0.5%) se encontraba deteriorado, observándose igualmente que tanto el ensilado con 1% de inóculo como el ensilado con 2.5%, comenzaron a sufrir un proceso de descomposición, alcanzándose en todos los casos, valores de pH entre 5 y 6 para los 12 días de almacenamiento. Otro hecho resaltante es que al inicio de la elaboración del producto, se observó un olor característico de pescado, es decir que la melaza no enmascara en ningún momento el olor del mismo. Este olor fuerte a pescado se mantuvo en todos los ensilados durante el tiempo de almacenamiento. Se llegó a la conclusión de que cualquiera que sea la concentración de inóculo de *L. plantarum* utilizada, la cantidad de 5% de melaza no es suficiente para conservar estable el producto. Lo confirma el hecho de que a los pocos días de almacenamiento, los ensilados elaborados mostraron indicios de descomposición, demostrando así que la concentración de sustrato utilizada fue el factor limitante del proceso, no satisfaciéndose las demandas de los microorganismos fermentadores presentes en el producto.

Se realizó otro ensayo incrementando la concentración de melaza a 10% y variando las concentraciones de inóculo de *L. plantarum* (0.5; 1.0; 2.5; 5.0 y 10.0%). En la Figura 3 puede observarse que los ensilados muestran un comportamiento similar, notándose que a los cuatro días de almacenamiento todos ellos tenían un pH cercano a 4, el cual se mantuvo en todos los casos durante los 35 días de almacenamiento. En primera instancia, puede establecerse que 10% de melaza, bajo condiciones estrictas de asepsia, constituye una concentración suficiente de sustrato como para permitir un desarrollo adecuado del proceso de fermentación. A diferencia de lo observado en el ensayo anterior, el olor a melaza que acusaron estos ensilados al principio de su elaboración era fácilmente detectable, lo que significa que en esta proporción, la melaza enmascara el olor a pescado. Posteriormente se observó que a los 12 días de almacenamiento todos los ensilados obtenidos acusaban olores característicos, tanto a melaza como a ácido. De este ensayo se concluye, además, que una concentración de 1% de inóculo satisface los requerimientos mínimos necesarios para obtener un producto estable y de buena calidad. Se seleccionó una concentración de 1% y no la mínima establecida en la prueba (0.5%) ya que a pesar de que el ensilado preparado con esta concentración mostró un comportamiento adecuado sin descomposición alguna, conviene establecer ciertos márgenes de seguridad.

Habiendo establecido ya, que la concentración mínima de inóculo de *L. plantarum* requerida era de 1%, se procedió a realizar un ensayo, utilizando la concentración de 15% de melaza. Esto se hizo con el objeto de incrementar aún más los márgenes de seguridad, correspondiendo en este caso a la disponibilidad de una fuente de carbono, y teniendo en consideración que el producto sería almacenado por un largo período de tiempo. Habiendo un pequeño exceso de melaza, se garantiza que haya suficiente sustrato como para que se produzca el



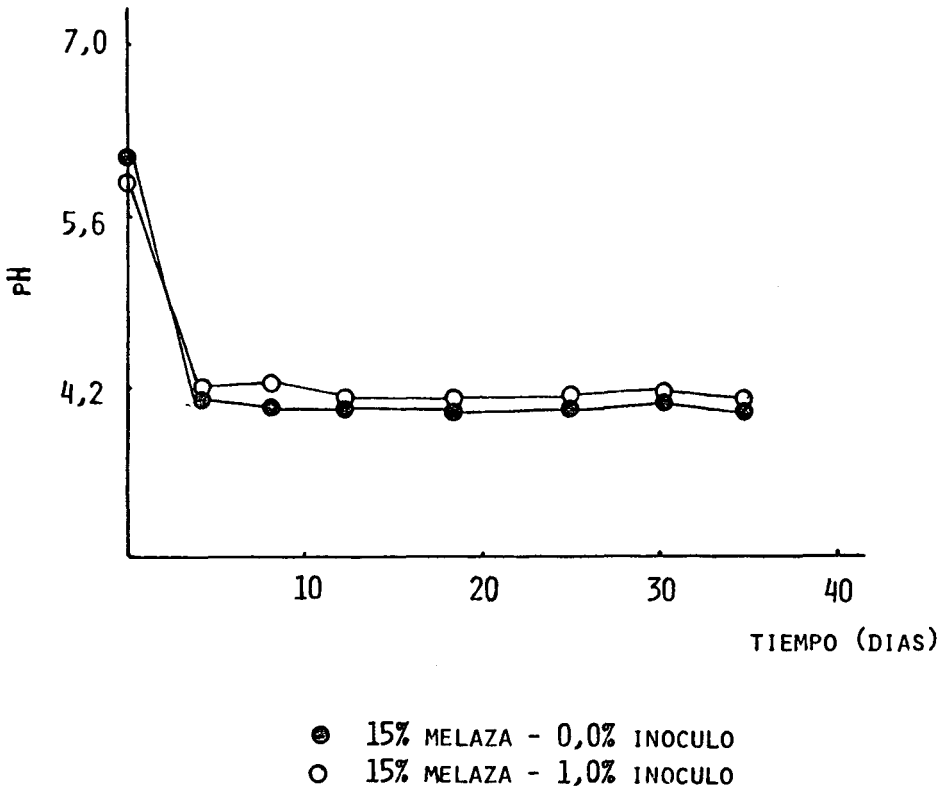
- ⊙ 10% MELAZA - 0,5% INOCULO
- ⊠ 10% MELAZA - 1,0% INOCULO
- △ 10% MELAZA - 2,5% INOCULO
- 10% MELAZA - 5,0% INOCULO
- △ 10% MELAZA - 10,0% INOCULO

FIGURA 3

Cambios en los valores de pH de los ensilados de pescado elaborados con 10% de melaza y diferentes concentraciones de inóculo de *L. plantarum*, bajo condiciones de asepsia

ácido necesario, que permita tanto la disminución como el mantenimiento de bajos valores del pH. Por otro lado, considerando que el ensilado microbiano es más económico que el ensilado químico, en esta prueba se elaboró un ensilado al que no se le incorporó el cultivo de microorganismos fermentadores. El propósito fue determinar si era necesaria la incorporación del mismo para que el proceso de fermentación láctica ocurriera, permitiendo esto una reducción en el costo de dicho producto.

En la Figura 4 se muestra el comportamiento de dos ensilados elaborados con 15% de melaza, con y sin incorporación de *L. plantarum*. Bajo las condiciones particulares establecidas en el presente estudio, se observó que a los cuatro días de almacenamiento en ambos



**FIGURA 4**

**Cambios en los valores de pH de los ensilados de pescado elaborados con 15% de melaza y diferentes concentraciones de inóculo de *L. plantarum*, bajo condiciones de asepsia**

casos hubo un descenso del pH a valores cercanos a 4. Se observó un comportamiento similar en cuanto al pH entre los dos ensilados durante todo el período de almacenamiento (35 días), lo cual hace pensar que, efectivamente, se puede elaborar ensilado sin necesidad de incorporar un cultivo de microorganismos productores de ácido. No obstante, si se consideran los resultados obtenidos de las estimaciones sensoriales, encontramos que en el caso del ensilado sin inóculo, a los 19 y 35 días de almacenamiento, éste presenta fuerte olor a pescado. Esto es de suma significancia, ya que olores tan marcados pueden restar palatabilidad al producto final suministrado a los animales. Asimismo, se observa una acelerada licuefacción en el ensilado al cual se le incorporó un cultivo iniciador, lo que era de

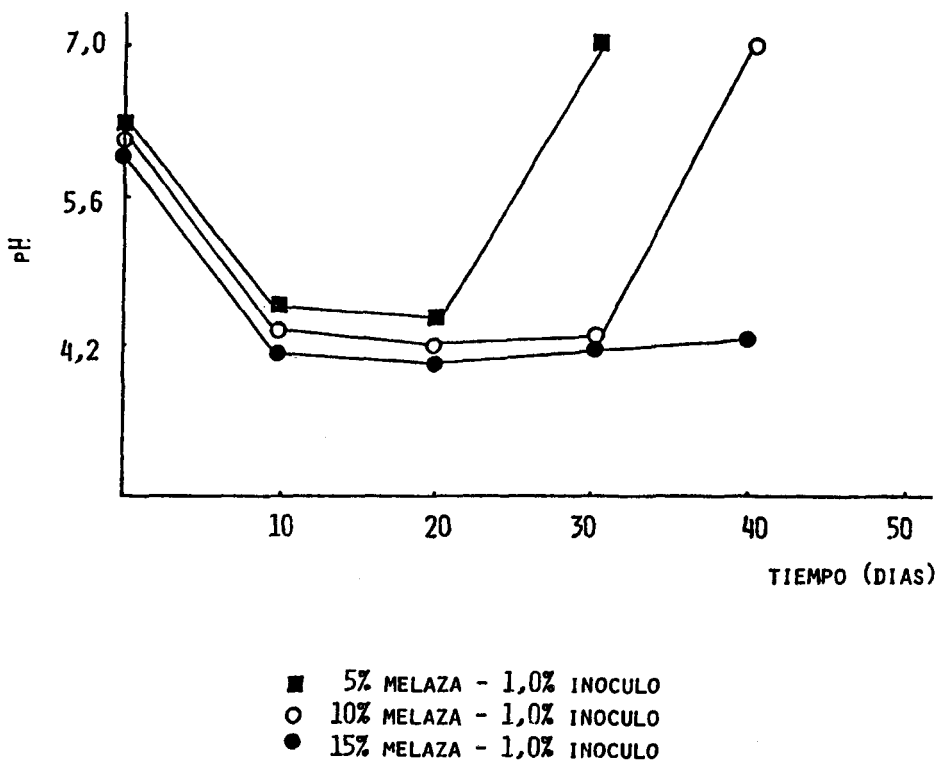
esperar debido a que este producto, además de contener la microflora propia de la melaza, incluye también un cultivo de bacterias ácido lácticas, favoreciendo así, la fermentación del producto y, por lo tanto, la hidrólisis proteínica. Se concluyó así que es conveniente la incorporación de cierta concentración de inóculo de microorganismos fermentadores al ensilado, tanto para evitar problemas posteriores de palatabilidad del producto como para acelerar el proceso de licuefacción del mismo.

Se llevó a cabo otra prueba con el propósito de simular las condiciones de preparación de grandes cantidades de producto, sabiendo que las condiciones de asepsia en el proceso se dificultan enormemente debido a que los equipos para moler y mezclar el pescado con los demás ingredientes se encuentran expuestos al medio ambiente, siendo así probable la contaminación del producto, aun cuando se trabaje bajo estrictas condiciones higiénicas. A tal efecto se elaboraron tres ensilados bajo escasas condiciones de asepsia o en condiciones denominadas en este estudio "ambientales", los cuales contenían 1% de inóculo y diferentes concentraciones de melaza (5, 10 y 15%). En la Figura 5 se observa que a los cuatro días de almacenamiento, los tres productos alcanzaron un pH de 4, pero a medida que transcurría el tiempo los ensilados con 5 y 10% de agregado de melaza, sufrían descomposición, a diferencia del ensilado con 15% de melaza, que permaneció estable durante todo el período de almacenamiento. Con la incorporación de 15% de melaza se aseguró un rápido aprovechamiento de la misma por parte de las bacterias ácido-lácticas, garantizándose además una cantidad suficiente de sustrato como para que ocurra una fermentación que produzca la suficiente cantidad de ácido láctico como para mantener un pH de 3.5 a 4.0. Además, al incorporar en el medio una mayor cantidad de ese carbohidrato, a la vez que se garantiza una cantidad de sustrato, se incrementa la población de bacterias, las cuales degradan más rápidamente el sustrato, con la consiguiente producción de ácido.

Establecidos los requerimientos mínimos necesarios (15% de melaza, 1% de inóculo de *L. plantarum* y 0.25 de sorbato) para obtener un ensilado microbiano estable y de buena calidad, se procedió a la obtención y caracterización del mismo.

Los resultados obtenidos del análisis químico del ensilado de pescado líquido, se muestran en la Tabla 1; los valores obtenidos en todas las determinaciones no difieren mucho de los obtenidos para la materia prima. Se constata, asimismo, que no existen marcadas diferencias en los resultados obtenidos para las diferentes determinaciones realizadas tanto al inicio como al final de la elaboración del producto, concluyéndose así que no existen diferencias inherentes a los procesos de fermentación y licuefacción.

En la Tabla 2 se aprecia la composición de ácidos grasos obtenida para el ensilado de pescado líquido. Según se observa, hay una mayor proporción de ácidos grasos insaturados (48.96%), siendo el ácido docosaheptaenoico (C22:6W3) el ácido graso insaturado dominante (22.61%). Los ácidos grasos saturados constituyen una menor propor-



**FIGURA 5**

**Cambios en los valores de pH de los ensilados de pescado elaborados con 1% de inóculo de *L. plantarum* y diferentes concentraciones de melaza, bajo "condiciones ambientales"**

ción (39.89%) al igual que el grupo de los ácidos grasos no identificados (11.16%). Dentro del grupo de los saturados tenemos que el ácido hexadecanoico (C16:0) constituye el ácido graso de mayor proporción (23.79%).

Los resultados obtenidos en la caracterización microbiológica del ensilado de pescado líquido se exponen en la Tabla 3. En general, se observa un alto conteo de aerobios mesófilos lo que era de esperar, debido a que la cepa inoculada al producto (*L. plantarum*) se ubica dentro de este grupo. Tal como lo establecen Linden y Plejen (9), durante el almacenamiento del producto se aprecia solamente la presencia de bacterias ácido-lácticas, mientras que los microorganismos patógenos tales como Coliformes, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*

TABLA 1

**ANALISIS FISICO-QUIMICO REALIZADO EN LA MATERIA PRIMA Y EN EL ENSILADO DE PESCADO LIQUIDO, TANTO AL INICIO COMO AL FINAL DEL PERIODO DE ALMACENAMIENTO**

Determinación (%)	Materia prima	Ensilado de pescado inicial (t=0 días)	Líquido final (t=150 días)
Sólidos totales	23.91	34.62	34.50
Humedad	76.09	65.38	65.60
Proteína cruda	17.02	16.42	15.76
Grasa cruda	2.16	1.57	1.65
Cenizas	4.66	5.56	6.28
Carbohidratos	—	11.07	10.71

TABLA 2

**COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DEL ENSILADO DE PESCADO LIQUIDO**

Descripción abreviada	Acidos grasos Nombre sistemático	Proporción %
<i>Saturados</i>		
C14:0	n-Tetradecanoico	3.039
C15:0	n-Pentadecanoico	0.930
C16:0	n-Hexadecanoico	23.792
C17:0	n-Heptadecanoico	1.990
C18:0	n-Octadecanoico	10.135
<b>Total ácidos grasos saturados</b>		<b>39.886</b>
<i>Monoinsaturados</i>		
C16:1	Hexadecaenoico	3.430
C18:1	Octadecaenoico	9.006
<b>Total ácidos grasos monoinsaturados</b>		<b>12.436</b>
<i>Polinsaturados</i>		
C18:2	Octadecadienoico	2.089
C20:4W6	Eicosatetraenoico	5.540
C20:5W3	Eicosapentaenoico	6.277
C22:6W3	Docosahexaenoico	22.613
<b>Total ácidos grasos polinsaturados</b>		<b>36.519</b>
<b>Total ácidos grasos insaturados</b>		<b>48.955</b>
<b>Total ácidos grasos no identificados</b>		<b>11.157</b>

TABLA 3

## ANALISIS MICROBIOLOGICO DEL ENSILADO DE PESCADO LIQUIDO

Microorganismo	Ensilado de pescado líquido
Aerobios mesófilos (UFC/g)	> 3 x 10 <sup>5</sup>
Mohos (UFC/g)	< 10
Levaduras (UFC/g)	< 10
Coliformes totales (NMP/g)	< 3
Coliformes fecales (NMP/g)	< 3
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	< 100
<i>Salmonella spp.</i> (UFC/g)	No se encontró
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	< 100

spp., se encuentran restringidos. Ello se debe fundamentalmente al bajo pH del producto, a las condiciones de anaerobiosis en las cuales éste es almacenado, y a la presencia de ciertas sustancias antibacterianas producidas por las bacterias ácido-lácticas.

A partir de los comentarios precedentes, se concluye que el ensilado de pescado microbiano es un producto que muestra características adecuadas físico-químicas como microbiológicas. De ahí que pueda ser suministrado sin problemas como alimento para animales domésticos.

El proceso de fermentación así como el de licuefacción y la estabilidad del ensilado por 150 días se siguió mediante los siguientes índices: pH, acidez total, conteo de aerobios mesófilos, nitrógeno no-proteínico, líquido exudado, consistencia y recuento de mohos y levaduras.

En la Tabla 4 se dan a conocer los resultados obtenidos en las determinaciones de pH, notándose una disminución progresiva del

**TABLA 4**

**CAMBIO EN LOS VALORES DE pH, ACIDEZ, NITROGENO NO-PROTEINICO, LIQUIDO EXUDADO, CONSISTENCIA, CONTAJE DE AEROBIOS MESOFILOS Y HONGOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE ENSILADO DE PESCADO LIQUIDO**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>	<b>Acido láctico (%)</b>	<b>Nitrógeno No-Prot. (% N-total)</b>	<b>Líquido exudado (ml/20g)</b>	<b>Consistencia (cm/30seg)</b>	<b>Aerobios mesófilos (UFC/g)</b>	<b>Hongos (UFC/g)</b>
0	5.97	0.74	21.96	0.00	0.00	7.7·10 <sup>6</sup>	< 10
6	4.18	3.60	50.59	2.73	1.86		
15	4.05	4.42	60.39	5.26	8.89		
30	4.04	4.72	64.31	5.82	8.54	1.7·10 <sup>7</sup>	< 10
60	3.97	4.92	67.06	5.57	8.31	3.0·10 <sup>5</sup>	< 10
90	4.00	5.13	67.45	6.53	10.21		
120	3.95	5.05	71.37	6.95	11.83		
150	3.90	5.58	67.45	6.20	11.83		

mismo a medida que transcurría el tiempo. En los primeros cinco días de almacenamiento ocurrió un marcado descenso del pH a 4.2, alcanzando niveles más o menos constantes durante los 150 días de almacenamiento del ensilado. El pH constituye uno de los índices de mayor importancia, el cual debe controlarse durante el proceso de elaboración del ensilado, ya que los cambios en el mismo son indicativos de la calidad deteriorativa del producto (10).

En cuanto a los valores de acidez, en la misma Tabla 4 se observa que hubo un incremento en la producción de ácido láctico en el producto a medida que transcurría el tiempo. A su vez, se observa que al incrementarse el contenido de ácido láctico en el producto ocurrió una disminución progresiva del pH hasta alcanzar niveles más o menos estables. El hecho de que el pH y la acidez se mantengan constantes a partir de los 60 días de almacenamiento, se debe fundamentalmente al cese del proceso fermentativo, lo que es consecuencia de que los microorganismos tienden a disminuir ligeramente en número, debido a la alta concentración de ácido presente en el medio, el cual actúa inhibiendo la cepa y la disminución de la fuente de carbono incorporada inicialmente al medio. Lindgren y Pleje (9) encontraron que durante el almacenamiento hay un incremento sólo en la población de bacterias ácido-lácticas, lo que guarda correspondencia con los resultados obtenidos en este estudio. Los hallazgos en cuestión se informan en la Tabla 4, como recuento de aerobios mesófilos, notándose a los 60 días un descenso en la población de los mismos. En cuanto al crecimiento de mohos y levaduras, en la Tabla 4 ya citada, se observa, asimismo, la ausencia de los mismos durante todo el período de almacenamiento.

Los resultados obtenidos en las determinaciones de nitrógeno no-proteínico se presentan en la misma Tabla 4, apreciándose un incremento progresivo del mismo con el transcurso del tiempo. Además, según se observa, al igual de lo que ocurre con el ensilado químico, a los 15 días de almacenamiento cerca de 60% del nitrógeno total se encuentra en forma de nitrógeno soluble, notándose posteriormente un incremento menos notorio del mismo.

Se observa también cierta relación entre el pH y el nitrógeno no-proteínico, puesto que a medida que disminuye el pH y la temperatura de almacenamiento se mantiene sobre la temperatura ambiente, se favorece la actividad proteolítica de ciertas enzimas, las cuales actúan sobre las proteínas del tejido muscular del pescado produciendo la consiguiente hidrólisis proteínica. Esta actividad autolítica que ocurre durante el almacenamiento del pescado fermentado incrementa el contenido de amonio, aminos, aminoácidos y péptidos, que no son más que sustancias solubles que afectan la capacidad amortiguadora del material, incrementando el pH; de ahí que las bacterias ácido lácticas se vean forzadas a producir más ácido (9).

Durante el almacenamiento del ensilado de pescado, tanto químico como microbiano, se observa una rápida licuefacción del producto (1, 11). Esto se evidencia con las determinaciones de consistencia y líquido exudado obtenidas en este estudio, cuyos valores se notifican en la Tabla 4. Ambos parámetros son utilizados para evaluar el grado

de licuefacción del producto. Respecto a los valores de líquido exudado, se observa un aumento progresivo de éstos, en el tiempo, consecuencia del proceso de hidrólisis que está desarrollándose en el producto. Como los datos lo revelan, el incremento de líquido es bajo a los seis días de almacenamiento, pero luego se incrementa un poco, manteniéndose estable durante los 150 días de almacenamiento. Por otro lado, a medida que el volumen de líquido exudado por los tejidos del pescado aumenta, se suscita una disminución en el grado de consistencia del ensilado, lo cual se traduce en un mayor espacio recorrido en un tiempo dado. Esto lo explica igualmente el proceso de hidrólisis que se está desarrollando en el producto; así se observa que en los primeros 15 días hay cambios marcados en los valores de consistencia, manteniéndose más o menos estable durante el resto del período de almacenamiento.

Las determinaciones de pH, acidez, recuento de aerobios mesófilos y hongos demuestran la poca alteración deteriorativa que sufre el ensilado durante su almacenamiento indicando esto que es un producto estable no perecedero. Los resultados obtenidos en las determinaciones de nitrógeno no-proteínico, líquido exudado y consistencia demuestran que al inicio del proceso hay un rápido proceso de licuefacción del producto como consecuencia de la rápida producción de ácido y consecuente caída del pH.

En la actualidad se están realizando estudios con miras a determinar la factibilidad de utilización del ensilado microbiano tanto líquido como deshidratado, como suplemento proteínico en raciones de animales monogástricos tales como aves y cerdos, así como en rumiantes.

## CONCLUSIONES

En síntesis, el estudio aquí expuesto nos llevó a las siguientes conclusiones. En primer término, demostró la factibilidad de elaborar ensilado de pescado por vía microbiana utilizando especies de pescado pertenecientes a la fauna de acompañamiento del camarón.

Bajo estrictas condiciones de asepsia, 10% y/o 15% de melaza, 1% de inóculo de *L. plantarum* y 0.25% de ácido sórbico, resultan ser satisfactorios, tanto desde el punto de vista físicoquímico como sensorial, en la elaboración de ensilado de pescado.

La elaboración de dicho ensilado bajo "condiciones ambientales" es satisfactoria cuando se mezclan 15% de melaza con 1% de inóculo de *L. plantarum* y 0.25% de ácido sórbico, mostrando este producto excelente calidad físicoquímica así como microbiológica.

En el proceso de obtención de ensilado microbiano se observa que en los primeros seis días hay cambios íntimamente involucrados con la producción de ácido, reducción de pH y control microbiano, estando posteriormente relacionados con la hidrólisis proteínica.

El ensilado de pescado microbiano elaborado a partir de la fauna de acompañamiento del camarón es un producto estable, que puede ser almacenado por largos períodos de tiempo sin que acuse deterioro alguno.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), Proyecto SI-1308, y por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Fue presentado en el I Congreso Iberoamericano y del Caribe, Isla de Margarita, Venezuela, en mayo de 1988.

## SUMMARY

### STUDY OF MICROBIAL FISH SILAGE FROM UNDER-UTILIZED FISH SPECIES

Fish silage was produced by microbial means from a mixture of several fish species which are not used for human consumption, and form part of the shrimp by-catch. The fish was mixed with a carbohydrate source (molasses) and a starter culture of *Lactobacillus plantarum* 8014. The mixture was fermented at  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ . Several tests were undertaken to determine the optimal conditions and concentration of molasses (5, 10 and 15%) and *Lactobacillus* (0.5, 1.0, 2.5, 5.0 and 10.0%).

Results indicated that 1% of microorganisms and 15% of molasses were the optimal proportions to produce a stable fish silage. The production process and stability study of fish silage were followed through chemical, physical and microbiological tests. As findings revealed, the first six days of the process are related to acid production, pH reduction and microbial control, while after this period the process is basically related to protein hydrolysis. In addition, sensory tests of flavor and color were performed.

The results of this study suggest the feasibility of utilizing this marine resource at present discarded, through a technological scheme, to produce fish silage for animal feed.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tatterson, I. & M. Windsor. Fish silage. *J. Sci. Food Agric.*, 25: 369, 1974.
2. Raa, J. & A. Gildberg. Fish silage, a review. *C.R.C. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, April, 383, 1982.
3. Petersen, H. Acid preservation of fish and fish offal. *FAO Fish Bull*, 6(1-3), 1953.
4. Green, S., J. Wiseman & D. Cole. Fish silage in pig diets. *Pig News and Information*, 4(3): 269-273, 1983.
5. Buchanan, R. & N. Gibbons. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 3rd ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 1974.
6. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 137h ed. Washington, D.C., The Association, 1980.
7. Stansby, M., R. Harrison, J. Dassow & M. Sater. Determining volatile bases in fish. Comparison of precision of certain methods. *Industrial & Eng. Chem.*, 16: 593, 1944.
8. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganismos de los Alimentos*. Vol. 1. España, Editorial Acribia, 1978.

9. Lindgren, S.S. & M. Pleje. Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. **J. Sci. Food Agric.**, **34**: 1057-1067, 1983.
10. Jayawardena, K. & R. Poulter. Studies on the preparation of fish silage. Effect of quality of raw material and type of acids. In: **Proceedings of the IPFC Workshop Fish Silage**. Roma, FAO, 1980, p. 34-35. (FAO Fish Report No. 230).
11. Disney, G., I. Tatterson & J. Olley. Recent developments in fish silage. In: **Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish**. London, Tropical Products Institute, 1977, p. 231-240.